

**PERBEDAAN HASIL PEMERIKSAAN KADAR HB
METODE SAHLI DENGAN DARAH VENA YANG
SEGERA DIPERIKSA DAN DITUNDA 30
MENIT, 60 MENIT DAN 90 MENIT
PADA SUHU RUANGAN**

KARYA TULIS ILMIAH

Karya Tulis Ilmiah ini diajukan untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam menyelesaikan program pendidikan Ahli Madya Analis Kesehatan



Oleh :

**Irene Dian Seran
PO. 530333316070**

**PROGRAM STUDI ANALIS KESEHATAN
POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES KUPANG
2019**

LEMBAR PERSETUJUAN

KARYA TULIS ILMIAH

**PERBEDAAN HASIL PEMERIKSAAN KADAR HB
METODE SAHLI DENGAN DARAH VENA YANG
SEGERA DIPERIKSA DAN DITUNDA 30
MENIT, 60 MENIT DAN 90 MENIT
PADA SUHU RUANGAN**

Oleh :

**Irene Dian Seran
PO. 530333316070**

Telah disetujui untuk diseminarkan

Pembimbing



**Agustina W. Djuma, S.Pd., M.Sc
NIP. 197308011993032001**

LEMBAR PENGESAHAN

KARYA TULIS ILMIAH

PERBEDAAN HASIL PEMERIKSAAN KADAR HB
METODE SAHLI DENGAN DARAH VENA YANG
SEGERA DIPERIKSA DAN DITUNDA 30
MENIT, 60 MENIT DAN 90 MENIT
PADA SUHU RUANGAN

Oleh :

Irene Dian Seran
PO. 530333316075

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji
Pada tanggal, 13 Juni 2019

Susunan Tim Penguji

1. dr. Mahrany Graciella, Sp.PK

:

2. Agustina W. Djuma, S.Pd., M.Sc

:

Karya Tulis Ilmiah ini telah diterima sebagai salah satu persyaratan untuk
memperoleh gelar Ahli Madya Analis Kesehatan

Kupang, 13 Juni 2019
Ketua Program Studi Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Kupang



Agustina W. Djuma, S.Pd., M.Sc
NIP. 19730801193032001

PERNYATAAN KEASLIAN KTI

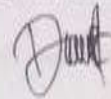
Yang bertanda tangan di bawah ini

Nama : Irene Dian Seran

NIM : PO.530333316070

Dengan ini saya menyatakan bahwa Karya Tulis Ilmiah ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh keserjanaan di suatu perguruan tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Kupang, Juni 2019
Yang menyatakan



Irene Dian Seran

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa karena hanya atas kasih dan penyertaan-Nyalah sehingga penulis diberikan hikmat untuk menyusun dan menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini dengan judul **“PERBEDAAN HASIL PEMERIKSAAN KADAR HB METODE SAHLI DENGAN DARAH VENA YANG SEGERA DIPERIKSA DAN DITUNDA 30 MENIT, 60 MENIT DAN 90 MENIT PADA SUHU RUANGAN”**

Penulisan Karya Tulis Ilmiah ini dibuat atas inisiatif penulis sebagai wahana aplikasi dari ilmu yang diperoleh pada perkuliahan. Disamping itu untuk memenuhi tuntutan akademik bahwa sebagai mahasiswa Jurusan Analis Kesehatan tingkat terakhir (III) diwajibkan menyusun Karya Tulis Ilmiah.

Karya Tulis Ilmiah ini bisa diselesaikan tidak terlepas dari bantuan dan kerjasama dari berbagai pihak baik langsung maupun tidak langsung. Oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Ibu R. H. Kristina, SKM, M.Kes selaku Direktur Politeknik Kesehatan Kemenkes Kupang.
2. Ibu Agustina W. Djuma, S.Pd.,M.Sc selaku Ketua Program Studi Analis Kesehatan Politeknik Kesehatan Kemenkes Kupang dan sebagai Pembimbing yang dengan penuh ketulusan telah membimbing dan mengarahkan penulis dalam menyelesaikan penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini.
3. dr. Mahrany Graciella, Sp.PK, Selaku Penguji I yang dengan penuh kesabaran telah mengoreksi penulisan Karya Tulis Ilmiah ini.
4. Ibu Norma T. Kambuno, S.Si.,Apt.,M.Sc, sebagai pembimbing akademik selama penulis menempuh pendidikan di Program Studi Analis Kesehatan.
5. Bapak dan ibu dosen yang telah mendidik dan memberikan ilmunya kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah dengan baik.
6. Bapak dan Mama tercinta yang selalu mendoakan dan mendukung penulis.
7. Kakak Stiven, kakak Yanto dan kakak Maria yang selalu mendukung dan mendoakan penulis.

8. Teman-teman angkatan 08 Analis Kesehatan khususnya FEHLING yang telah mendukung penulis dalam menyelesaikan penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini.
9. Keluarga kecil(SH) bunda Novi, kakak Dion, Elvi, Inggrid, Clarita, Narni dan Helsy yang selalu mendoakan dan mendukung penulis.
10. Sahabat terbaik Alny, Jeanet dan Alny yang selalu memberikan semangat bagi penulis.
11. Teman terkasih kakak Syiffa, kakak Ian, kakak Dea, Laras dan Ila yang selalu mendoakan dan mendukung penulis.
12. Partner Kiki yang selalu mendukung, memotivasi dan mendoakan penulis.
13. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini.

Akhirnya penulis menyadari bahwa penulisan Karya Tulis Ilmiah ini masih jauh dari kesempurnaan, untuk itu kritik dan saran demi penyempurnaan Karya Tulis Ilmiah ini sangat penulis harapkan.

Kupang, Juni 2019

Penulis

INTISARI

Pemeriksaan Hemoglobin merupakan pemeriksaan penyaring untuk membantu penegakan diagnosis, sebagai pencerminan reaksi tubuh terhadap suatu penyakit, dan sebagai petunjuk kemajuan terapi penderita anemia atau penyakit lain. Pemeriksaan kadar Hb yang menggunakan darah EDTA sebaiknya harus dilakukan dengan segera dan setidaknya dikerjakan dalam waktu kurang dari 2 jam, apabila terpaksa ditunda sebaiknya harus diperhatikan batas waktu penyimpanannya. Penyimpanan darah EDTA pada suhu kamar yang terlalu lama dapat menyebabkan terjadinya serangkaian perubahan pada eritrosit seperti pecahnya membran eritrosit (hemolisis) sehingga Hb bebas ke dalam medium sekelilingnya (plasma) yang menyebabkan kadar Hb menurun. Tujuan penelitian adalah mengetahui perbedaan hasil pemeriksaan kadar Hb metode Sahli dengan darah vena yang segera diperiksa dan ditunda 30 menit, 60 menit dan 90 menit pada suhu ruangan. Hipotesis penelitian adalah ada perbedaan hasil pemeriksaan kadar Hb metode Sahli dengan darah EDTA yang segera diperiksa dan ditunda 30 menit, 60 menit dan 90 menit pada suhu ruangan. Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimen dengan 8 kali replikasi. Analisis hasil dilakukan dengan uji statistik parametrik *One-Way ANOVA* dilanjutkan menggunakan Tukey HSD menandakan adanya perbedaan. Hasil uji Tukey HSD ditunjukkan dengan nilai $p = 0,000$. Hasil yang didapatkan ini menunjukkan terdapat perbedaan bermakna antara pemeriksaan segera dengan ditunda 30 menit, 60 menit dan 90 menit pada suhu ruangan.

Kata Kunci : Kadar Hb, metode sahli

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
SURAT PERNYATAAN KEASLIAN KTI	iv
KATA PENGANTAR	v
INTISARI	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
BAB I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	5
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	6
A. Gambaran Hemoglobin	6
B. Bahan Pemeriksaan	14
C. Pengukuran Kadar Hb Metode Sahli	15
D. Pengaruh Kadar Hb dengan Penggunaan EDTA	16
E. Kerangka Konsep	17
F. Hipotesis	17
BAB III. METODE PENELITIAN	18
A. Jenis Penelitian	18
B. Tempat dan Waktu Penelitian	18
C. Variabel Penelitian	18
D. Sampel	18
E. Definisi Operasional	19
F. Prosedur Penelitian	20
G. Analisis Hasil	24
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	25
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	29
A. Kesimpulan	29
B. Saran	29
DAFTAR PUSTAKA	30

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Nilai normal Hb	11
Tabel 4.1 Hasil Pemeriksaan Kadar Hb	25

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Molekul hemoglobin.....	8
Gambar 2. Gugus heme.....	8
Gambar 3. Sirkulasi darah vena dan arteri.....	14

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Alur Penelitian.....	32
Lampiran 2. Surat Ijin Penelitian.....	33
Lampiran 3. Pembuatan reagen HCl 0,1 N	34
Lampiran 4. Surat Persetujuan Subjek Peneliti	35
Lampiran 5. Kuisioner Subjek Penelitian	36
Lampiran 6. Gambar dan Hasil Penelitian	37
Lampiran 7. Hasil Uji Statistik.....	40
Lampiran 8. Surat Selesai Penelitian	43

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Hemoglobin (Hb) merupakan protein yang mengikat besi (Fe^{2+}) sebagai komponen utama dalam eritrosit dengan fungsi transportasi O_2 dan CO_2 serta memberi warna merah dalam darah. Setiap heme dalam Hb berikatan dengan O_2 , maka Hb disebut *oksihemoglobin* (HbO_2). Setiap gram Hb dapat mengikat 1,34 mL O_2 dalam kondisi jenuh. Pemeriksaan ini bertujuan untuk menentukan konsentrasi atau kadar Hb dalam darah dengan satuan g/dL atau g% atau g/100mL. Hemoglobin memiliki beberapa turunan yang terdiri dari hemoglobin atau methemoglobin (Hi), sulphemoglobin (SHb) dan karboksihemoglobin (HbCO) (Nugraha, 2017).

Pemeriksaan laboratorium yang baik diperlukan dalam menunjang diagnosis suatu penyakit. Salah satu pemeriksaan laboratorium yang sering digunakan adalah pemeriksaan hemoglobin (Hb). Pemeriksaan Hb merupakan suatu hal penting sebagai pemeriksaan penyaring untuk membantu penegakan diagnosis, sebagai pencerminan reaksi tubuh terhadap suatu penyakit, dan sebagai petunjuk kemajuan terapi penderita anemia atau penyakit lain. Risiko yang terjadi jika penetapan kadar Hb tidak tepat akan membuat kesalahan dalam diagnosis suatu penyakit dan pola pengobatan terhadap pasien (Gandasoebrata, 2010).

Pemeriksaan kadar Hb di laboratorium dapat dilakukan dengan dua metode yaitu metode manual (metode Sahli) dan metode otomatis (metode Sianmethemoglobin). Pada metode Sahli, hemoglobin dihidrolisis dengan HCl menjadi globin *ferroheme*. *Ferroheme* oleh oksigen yang ada di udara dioksidasi

menjadi *ferriheme* yang segera bereaksi dengan ion Cl membentuk *ferrihemechlorid* yang juga disebut hematin atau hemin yang berwarna coklat. Warna yang terbentuk ini dibandingkan dengan warna standar (secara visual). Perubahan warna hemin dibuat dengan cara pengenceran sedemikian rupa sehingga warnanya sama dengan warna standar (Calle, dkk., 2003). Kadar hemoglobin pada pria dewasa yaitu 14-18 g/dL dan untuk wanita dewasa 12-16 g/dL (Wintrobe dan Greer, 2009).

Menurut Gibson (Parwati, 2018) Hb sangat baik ditentukan menggunakan darah vena yang diantikoagulasi menggunakan *Etylene Diamine Tetra Acetate* (EDTA). EDTA yang digunakan dalam bentuk garam natrium atau kalium. Banyaknya antikoagulan EDTA yang digunakan adalah 1 mg/mL darah.

Pemeriksaan kadar hemoglobin yang menggunakan darah EDTA sebaiknya harus dilakukan dengan segera dan setidaknya dikerjakan dalam waktu kurang dari 2 jam, apabila terpaksa ditunda sebaiknya harus diperhatikan batas waktu penyimpanannya. Penyimpanan darah EDTA pada suhu kamar yang terlalu lama dapat menyebabkan terjadinya serangkaian perubahan pada eritrosit seperti pecahnya membran eritrosit (hemolisis) sehingga hemoglobin bebas ke dalam medium sekelilingnya (plasma) yang menyebabkan kadar Hb menurun. Faktor-faktor yang menyebabkan penundaan dalam pemeriksaan kadar hemoglobin diantaranya pergantian *shift* petugas laboratorium, pasien terlalu banyak sedangkan petugas dan alat laboratorium terbatas sehingga sampel banyak yang mengalami penundaan pemeriksaan (Gandasoebrata, 2010).

Pemeriksaan Hemoglobin metode Sahli masih sering dilakukan di puskesmas karena hanya memerlukan alat sederhana, namun pemeriksaan ini memiliki kesalahan atau penyimpangan hasil mencapai 15% sampai 30%.

Kesalahan atau penyimpangan hasil ini disebabkan oleh beberapa faktor yakni :

1. Kesalahan yang terjadi pada metode

Kesalahan atau penyimpangan hasil yang terjadi karena tidak semua hemoglobin dirubah menjadi asam hematin seperti methemoglobin, sulphemoglobin dan karboksihemoglobin

2. Alat yang digunakan

Warna standar yang sudah lama dan tidak dikalibrasi, kotor atau dibuat oleh banyak pabrik sehingga intensitas warna standar berbeda.

3. Ketika pemeriksaan

Misalnya waktu inkubasi, pemipetan darah yang kurang tepat, adanya gelembung udara, pemakaian batang pengaduk yang terlalu sering digunakan untuk menghomogenkan pengenceran, sumber cahaya, kemampuan untuk membedakan warna serta kelelahan mata (Nugraha, 2017).

Hilmi (2009) menyatakan bahwa inkubasi darah mempengaruhi kadar Hb. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar Hb yang diperiksa 0 jam dan ditunda setelah 6 jam, 12 jam, 24 jam mengalami perubahan sebesar 84%. Penelitian yang dilakukan oleh Parwati (2018) menyatakan bahwa kadar Hb yang diperiksa dengan alat otomatis (cyanmethemoglobin) segera dan ditunda 4 jam pada suhu ruangan memiliki hasil yang berbeda. Pemeriksaan darah segera memiliki rata-rata kadar Hb 14,57 g/dL sedangkan pemeriksaan darah yang ditunda memiliki

rata-rata kadar Hb 12,805 g/dL. Penundaan tersebut mengakibatkan terjadinya selisih sebesar 1,765 g/dL. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Helmi dan Purwati, diuji pada rentang waktu yang cukup panjang dan belum diteliti rentang waktu yang lebih singkat.

Berdasarkan uraian latar belakang diatas peneliti telah melakukan penelitian dengan judul “Perbedaan Hasil Pemeriksaan kadar Hb Metode Sahli dengan Darah Vena yang Segera Diperiksa dan Ditunda 30 menit, 60 menit dan 90 menit pada Suhu Ruangan”

B. Rumusan Masalah

Bagaimana perbedaan hasil pemeriksaan kadar Hb metode Sahli dengan darah vena yang segera diperiksa dan ditunda 30 menit, 60 menit dan 90 menit pada suhu ruangan?

C. Tujuan penelitian

1. Tujuan umum

Mengetahui perbedaan hasil pemeriksaan kadar Hb metode Sahli dengan darah vena yang segera diperiksa dan ditunda 30 menit, 60 menit dan 90 menit pada suhu ruangan.

2. Tujuan khusus

- a. Mengkaji hasil pemeriksaan Hb dengan metode Sahli dengan darah vena yang segera diperiksa dan ditunda 30 menit, 60 menit dan 90 menit pada suhu ruangan.
- b. Mengetahui pengaruh waktu penyimpanan sampel pada suhu ruangan terhadap hasil pemeriksaan kadar Hb metode Sahli.

D. Manfaat penelitian

1. Bagi petugas laboratorium

Sebagai masukan atau informasi tentang pemeriksaan Hb serta faktor penghambat yang mempengaruhi hasil pemeriksaan.

2. Bagi institusi

- a. Dapat menambah pustaka bagi Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Kupang sehingga dapat menambah wawasan pengetahuan mengenai pemeriksaan kadar Hb metode Sahli dengan darah vena yang segera diperiksa dan ditunda 30 menit, 60 menit dan 90 menit pada suhu ruangan.
- b. Sebagai masukan dalam meningkatkan mutu pada pelaksanaan praktikum hematologi dengan memberikan hasil pemeriksaan laboratorium yang cepat, tepat dan akurat.

3. Bagi penulis

- a. Meningkatkan pengetahuan tentang pemeriksaan Hb serta faktor yang mempengaruhi hasil pemeriksaannya.
- b. Meningkatkan ketelitian dan ketepatan dalam melakukan pemeriksaan kadar Hb.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Hemoglobin

1. Definisi Hemoglobin

Hemoglobin merupakan protein kompleks yang mengikat zat besi (Fe) dan terdapat di dalam eritrosit. Fungsi utama hemoglobin adalah mengangkut oksigen (O_2) dari paru keseluruh tubuh dan menukarnya dengan karbondioksida (CO_2) dari jaringan untuk dikeluarkan melalui paru. Tiap eritrosit mengandung 640 juta molekul hemoglobin agar dapat menjalankan fungsinya dengan baik (Nugraha, 2017).

Molekul hemoglobin terdiri dari globin, apoprotein, dan empat gugus *heme*, suatu molekul organik dengan satu atom besi. Hemoglobin kaya akan zat besi dan memiliki afinitas (daya gabung) terhadap oksigen dan dengan oksigen itu membentuk *oxihemoglobin* di dalam sel darah merah. Jumlah hemoglobin dalam darah normal ialah kira-kira 15 gram setiap 100 mL darah, dan jumlah ini biasanya disebut “100 persen” (Pearce, 2006). Hemoglobin dalam darah ini menyebabkan eritrosit berwarna merah, karena hemoglobin penyusun 30% dari total isi eritrosit (Sodikin, 2005).

Hemoglobin merupakan molekul yang terdiri dari kandungan *heme* (zat besi) dan rantai polipeptida globin (alfa, beta, gamma, dan delta), berada di dalam eritrosit dan bertugas untuk mengangkut oksigen. Kualitas darah ditentukan oleh kadar hemoglobin. Struktur Hb dinyatakan dengan menyebut jumlah dan jenis rantai globin yang ada. Terdapat 141 molekul asam amino pada rantai alfa, dan 146 molekul asam amino pada rantai beta, gamma dan

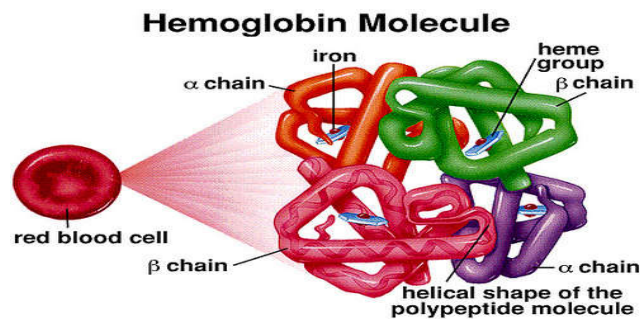
delta. Nama Hemoglobin merupakan gabungan dari *heme* dan globin. *Heme* adalah gugus prostetik yang terdiri dari atom besi, sedang globin adalah protein yang dipecah menjadi asam amino. Hemoglobin dapat diukur secara kimia dan jumlah Hb/100 mL darah dapat digunakan sebagai indeks kapasitas pembawa oksigen pada darah (Ganong, 2004).

2. Struktur Hemoglobin

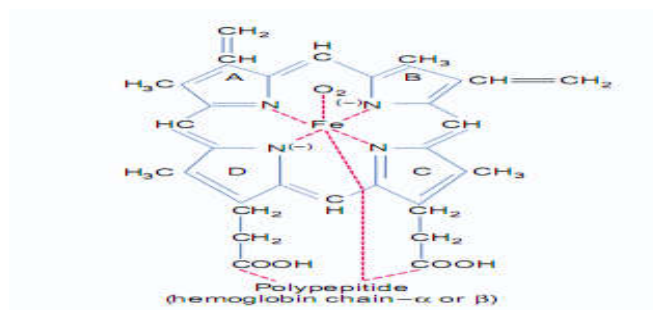
Hemoglobin tersusun dari empat molekul protein (*globulin chain*) yang terhubung satu sama lain. Hemoglobin normal orang dewasa (HbA) terdiri dari 2 *alpha-globulin chains* dan 2 *beta-globulin chains*, sedangkan pada bayi yang masih dalam kandungan atau yang sudah lahir terdiri dari beberapa rantai beta dan molekul hemoglobinnnya terbentuk dari 2 rantai alfa dan 2 rantai gamma yang dinamakan sebagai HbF.

Hemoglobin berupa tetramer (mengandung 4 subunit protein), yang terdiri dari masing-masing dua subunit alfa dan beta yang terikat secara nonkovalen. Subunit-subunitnya mirip secara struktural dan berukuran hampir sama. Tiap subunit memiliki berat molekul kurang lebih 16.000 Dalton, sehingga berat molekul total tetramernya menjadi sekitar 64.000 Dalton. Pusat molekul terdapat cincin heterosiklik yang dikenal dengan porfirin yang menahan satu atom besi, atom besi ini merupakan situs/lokasi ikatan oksigen. Tiap subunit hemoglobin mengandung satu *heme*, sehingga secara keseluruhan hemoglobin memiliki kapasitas empat molekul oksigen. Zat besi melekat pada molekul heme dan menghantarkan oksigen serta karbondioksida melalui darah.

Kapasitas hemoglobin untuk mengikat oksigen bergantung pada keberadaan gugus prostetik yang disebut *heme*. Gugus *heme* yang menyebabkan darah berwarna merah. Gugus *heme* terdiri dari komponen anorganik dan pusat atom besi. Komponen organik yang disebut *protoporfirin* terbentuk dari empat cincin pirol yang dihubungkan oleh jembatan metena membentuk cincin *tetra pirol*. Empat gugus metil dan gugus vinil dan dua sisi rantai propionat terpasang pada cincin ini (Ganong, 2004).



Gambar 1. Molekul hemoglobin (Anderson, 2010)



Gambar 2. Gugus Heme (Anderson, 2010)

3. Sintesis Hemoglobin

Hemoglobin yang terdapat dalam eritrosit terdiri dari *heme* dan globin. Bagian *heme* pada hemoglobin terdiri dari sebuah struktur cincin *porfirin* sebagai tempat melekatnya zat besi. Bagian globin pada hemoglobin adalah

suatu protein yang terdiri dari dua pasang rantai asam amino yang disebut *alfa* dan *non alfa* (*beta, gamma, delta*). Sintesis *hem* dan globin memiliki jalur pembentukan yang berbeda (Sacher, dkk., 2012).

a. Sintesis *Hem*

Hem terdiri dari empat struktur 4-karbon berbentuk cincin simetris yang disebut cincin *pirol*, yang membentuk satu molekul *porfirin*. Empat *pirol* menyatu, dan terjadi perubahan dan pertukaran gugus substituen yang kemudian terbentuk senyawa *protoporfirin*. Gugus karbon yang membentuk cincin *pirol* berasal dari asam amino *glisin* dan *suksinil* koenzim A. Sintesis *hem* berasal dari senyawa-senyawa ini yang melalui proses sebagai berikut :

- 1) Senyawa *glisin* dan *suksinil* koenzim A menyatu membentuk senyawa asam *aminolevulinat (ALA)*.
- 2) Dua molekul (*ALA*) menyatu membentuk molekul cincin *porfobilinogen*.
- 3) Empat senyawa *porfobilinogen* menyatu membentuk senyawa tetrapinol (bercincin empat) yang disebut *uroporfirinogen*.
- 4) Senyawa *uroporfirinogen* berubah menjadi koproporfirinogen yang kemudian berubah menjadi *protoporfirin*.
- 5) *Protoporfirin* berikatan dengan besi dengan bantuan enzim *ferokelatase* sehingga terbentuk *hem* (Sacher, dkk., 2012).

b. Sintesis Globin

Sintesis globin berada di bawah kendali *eritropoitin*, gen untuk sintesis globin terletak pada kromosom 11 (rantai gamma, delta, dan beta) dan 16 (alfa). Proses awal sintesis globin adalah transkrip gen globin pada kromosom 11 dan 16, kemudian hasil transkrip *mRNA* memasuki sitoplasma dan bergabung dengan molekul protein. *mRNA* globin melekat pada ribosom yang merupakan tempat terjadinya sintesis rantai globin.

Sintesis globin dipicu oleh *hem* bebas, setelah *hem* terbentuk, empat molekul *hem* masuk ke dalam empat molekul globin yang merupakan tahap akhir pembentukan hemoglobin. *Hem* disintesis di mitokondria, dan penggabungan globin terjadi di sitoplasma eritrosit yang sedang berkembang. Sintesis globin terutama terjadi di eritroblas dini, basofilik dan retikulosit (Hoffbrand, dkk., 2005)

4. Fungsi Hemoglobin

Fungsi utama hemoglobin antara lain adalah :

- a. Mengatur pertukaran oksigen dan karbon dioksida di dalam jaringan tubuh.
- b. Mengambil oksigen dari paru kemudian dibawa ke seluruh jaringan tubuh.
- c. Membawa karbondioksida dari jaringan tubuh sebagai hasil metabolisme ke paru (Hofbrand, dkk., 2005).

5. Kadar Hemoglobin

Kadar hemoglobin adalah ukuran pigmen respiratorik dalam butiran-butiran darah merah (Pearce, 2006). Kadar hemoglobin merupakan suatu ukuran yang digunakan dalam dunia medis untuk mengenali apakah seseorang mempunyai kadar hemoglobin rendah, normal atau tinggi. Fungsi ukuran ini biasa digunakan sebagai tindakan pengobatan secara medis.

Tabel 2.1 Nilai normal Hemoglobin berdasarkan kelompok usia

NO	Jenis kelamin/usia	Kadar hemoglobin	Satuan
1.	Laki-laki dewasa	14.0 - 18.0	g/dL
2.	Wanita dewasa	12.0 - 16.0	g/dL
3.	Anak-anak (2-6 tahun)	11.0 – 14.0	g/dL
4.	Anak-anak (6-12 tahun)	12.0 – 16.0	g/dL
5.	Bayi	10.0 – 15.0	g/dL
6.	Bayi baru lahir	16.0 – 25.0	g/dL

Sumber : Wintrobe dan Greer, 2009

6. Faktor-faktor yang mempengaruhi kadar Hemoglobin dalam darah

Beberapa faktor yang mempengaruhi kadar Hemoglobin adalah :

a. Umur

Semakin tua umur seseorang, maka semakin berkurang kadar Hemoglobinnnya. Penurunan ini terjadi karena pengaruh dari hormon.

b. Jenis kelamin

Pria memiliki kadar Hemoglobin yang lebih tinggi dibandingkan kadar Hemoglobin pada wanita. Hal ini juga berkaitan terhadap kandungan hormon pada pria maupun wanita. Kadar Hemoglobin wanita lebih rendah karena faktor aktivitasnya yang lebih sedikit dibanding aktivitas pada pria, selain itu wanita mengalami menstruasi.

c. Geografi (tinggi rendahnya daerah)

Makhluk hidup yang tinggal didataran tinggi tubuhnya cenderung lebih aktif memproduksi sel darah merah untuk meningkatkan suhu tubuh dan lebih aktif mengikat kadar oksigen yang lebih rendah dari pada didataran rendah. Makhluk hidup yang tinggal dipesisiran cenderung mempunyai Hemoglobin yang lebih rendah, sebab tubuh memproduksi sel darah merah dalam keadaan normal.

d. Nutrisi Makanan

Nutrisi makanan yang dikonsumsi banyak mengandung zat besi, dapat meningkatkan kadar Hemoglobin.

e. Faktor kesehatan

Kesehatan sangat mempengaruhi kadar Hemoglobin dalam darah. Kadar Hemoglobin dalam keadaan normal jika kesehatan terjaga dengan baik.

f. Faktor Genetik

Kadar hemoglobin juga dipengaruhi oleh faktor genetik. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian dari Ismoyowati, dkk., (2006) yang menunjukkan faktor genetik berpengaruh terhadap kadar hemoglobin. Ismoyowati, dkk., (2006) menyatakan bahwa enzim merupakan molekul yang tersusun oleh sederetan asam amino dengan struktur kompleks sebagai produk langsung dari sebuah atau beberapa gen melalui proses transkripsi DNA dan translasi RNA. Bloom dan Fawcett (1994), menyatakan bahwa DNA mengandung gen yang dibutuhkan dalam sintesis dan penggabungan

ke dalam hemoglobin dari empat rantai polipeptida yang berbeda, disebut alfa (α), beta (β), gamma (γ) dan delta (δ). Struktur setiap rantai globin ditentukan oleh lokus gen terpisah. Ganong (2004), menyatakan rangkain asam amino dalam rantai polipeptida hemoglobin ditentukan oleh gen globin. Hal ini menunjukkan bahwa faktor genetik berpengaruh terhadap kadar hemoglobin, dimana dalam penyusunan gen yang baik memerlukan senyawa protein yaitu asam amino sebagai pembentuknya.

7. Faktor-faktor yang mempengaruhi pemeriksaan hemoglobin.

a. Faktor pra-analitik

Faktor ini meliputi : jenis sampel (darah vena dan kapiler), jumlah volume sampel, jenis antikoagulan, kondisi pasien, persiapan alat dan identifikasi pasien (jenis kelamin dan umur).

b. Faktor analitik

Faktor ini meliputi : jenis peralatan yang dipakai, metode pemeriksaan, *user* (manusia/analisis), dan cara mengerjakan sampel.

c. Faktor paska analitik

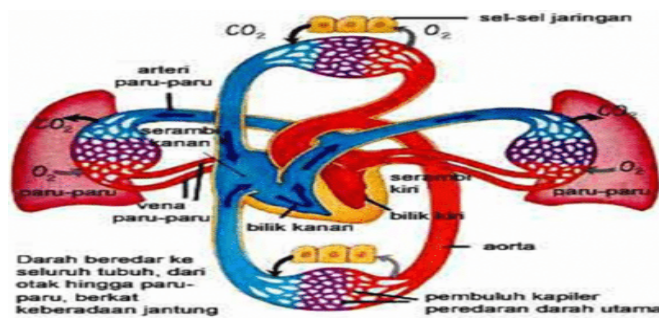
Faktor ini meliputi : pencatatan hasil pemeriksaan, verifikasi hasil dan penyerahan hasil laboratorium kepada pasien.

B. Bahan Pemeriksaan

1. Darah vena

Darah vena adalah darah yang berasal dari pembuluh darah vena, sering disebut juga pembuluh darah balik berfungsi untuk membawa darah dari jaringan kembali ke jantung. Darah dalam pembuluh darah vena mengandung

sedikit oksigen dan banyak karbondioksida, kecuali pada vena *pulmonalis* yang membawa darah dari paru-paru. Tujuan darah dikembalikan ke jantung adalah untuk mengisi darah dengan kandungan oksigen lagi di paru-paru, kemudian diedarkan lagi ke seluruh tubuh melalui pembuluh arteri. Pembuluh darah vena berdinding tiga lapis, lapisan tengah berotot lebih tipis, kurang kuat, lebih mudah kempes, dan kurang elastis dari pada arteri. Pembuluh darah vena cukup besar dan letaknya dibawah permukaan kulit, tetapi yang sering digunakan adalah vena mediana cubiti (Pearce, 2006).



Gambar 3. Sirkulasi darah vena dan arteri (Guyton dan Hall, 2007)

2. Antikoagulan EDTA

Antikoagulan adalah zat yang dipakai untuk mencegah terjadinya pembekuan darah dengan cara menghambat faktor-faktor pembekuan darah. Pencampuran darah dengan antikoagulan tidak boleh dikocok untuk mencegah terjadinya hemolisis dan menyebabkan sel dapat mengkerut. Antikoagulan yang dipakai pada pemeriksaan kadar Hb metode Sahli berupa EDTA (*Etylene Diamine Tetra Acetate*). EDTA dalam bentuk garam natrium atau kalium. Tiap 1 mg EDTA mencegah terjadinya pembekuan 1 mL darah.

Tabung *vacutainer* yang digunakan adalah yang berwarna ungu (Arianda, 2015).

C. Pengukuran kadar Hemoglobin dengan Metode Sahli

Penentuan kadar Hb dapat dilakukan dengan metode Sahli. Metode Sahli merupakan pemeriksaan Hb yang didasarkan atas pembentukan warna (visualisasi atau kolorimetri) (Nugraha, 2017).

Prinsip yang digunakan dalam pemeriksaan hemoglobin pada metode Sahli yaitu dengan membandingkan warna asam hematin coklat yang telah dirubah dari hemoglobin dengan asam klorida 0,1 N dengan cara membandingkan pada alat standart hemoglobinometer. Langkah kerja yanag dilakukan adalah :

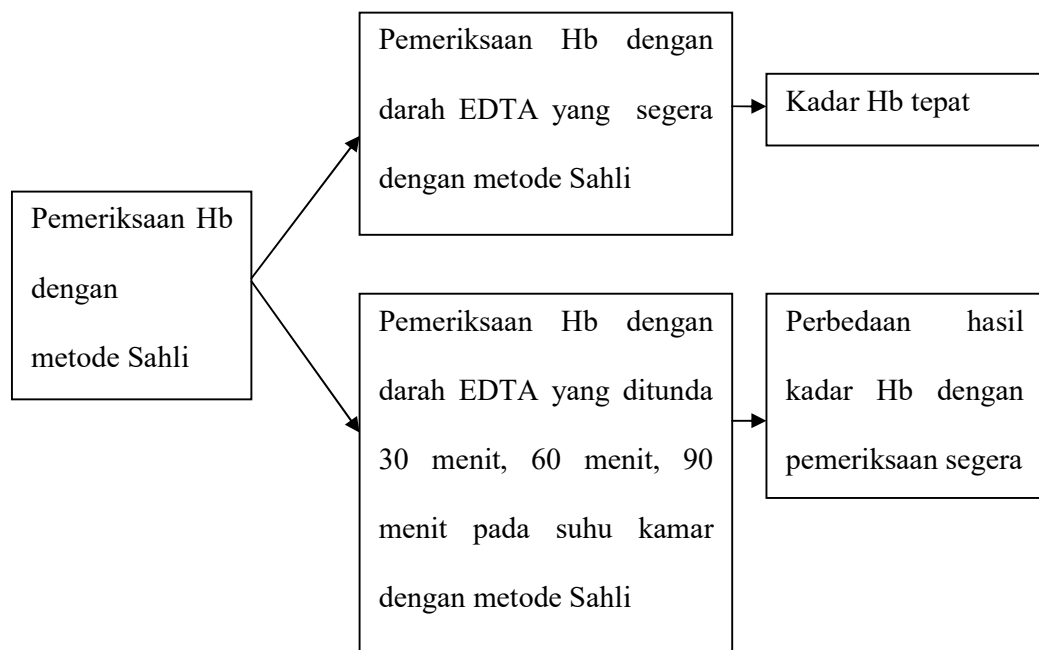
1. Disiapkan alat dan bahan yang akan dipakai.
2. Tabung Sahli diisi dengan larutan HCl 0,1 N hingga tanda 2.
3. Darah vena dihisap dengan pipet Sahli sampai tanda 20 μ L. Darah yang berlebih dihapus dengan tissue dan darah dimasukkan ke dalam tabung Sahli.
4. Ditunggu 5 menit maka akan terjadi pembentukan asam hematin. Kemudian ditambah aquades hingga warna sama dengan standar dan dibaca dalam g/dL.

D. Pengaruh Kadar Hb dengan penggunaan EDTA

Pemeriksaan kadar Hemoglobin yang menggunakan darah EDTA sebaiknya harus dilakukan dengan segera dan setidaknya dikerjakan dalam waktu kurang dari 2 jam, apabila terpaksa ditunda sebaiknya harus diperhatikan batas waktu penyimpanannya. Penyimpanan darah EDTA pada suhu kamar yang terlalu lama dapat menyebabkan terjadinya serangkaian perubahan pada eritrosit seperti pecahnya membran eritrosit (hemolisis) sehingga hemoglobin bebas ke dalam

medium sekelilingnya (plasma) yang menyebabkan kadar Hemoglobin menurun. Faktor-faktor yang menyebabkan penundaan dalam pemeriksaan kadar hemoglobin diantaranya yaitu pergantian shift petugas laboratorium, pasien terlalu banyak sedangkan petugas dan alat laboratorium terbatas sehingga sampel banyak yang mengalami penundaan pemeriksaan (Gandasoebrata, 2010).

E. Kerangka Konsep



F. Hipotesis

Terdapat perbedaan hasil pemeriksaan kadar Hb metode Sahli dengan darah EDTA yang segera diperiksa dan ditunda 30 menit, 60 menit dan 90 menit pada suhu ruangan.

BAB III

METEDOLOGI PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimen.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Hematologi Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Kupang pada bulan April 2019.

C. Variabel penelitian

1. Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah waktu pemeriksaan segera dan ditunda 30 menit, 60 menit dan 90 menit pada suhu ruangan. Kontrol yang digunakan adalah pemeriksaan segera.

2. Variabel terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar Hb dalam satuan g/dL.

D. Sampel

Sampel dalam penelitian ini adalah darah vena EDTA. Jumlah pengulangan yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan rumus umum :

$$(t-1)(r-1) > 15$$

Dimana : t = banyaknya perlakuan

r = jumlah sampel

Karena ada 3 perlakuan, maka jumlah pengulangan untuk tiap perlakuan dapat dihitung sebagai berikut :

$$(3-1)(r-1) \geq 15$$

$$(r-1) \geq 15/2$$

$$r \geq 7,5$$

$$r = 8$$

Jadi, jumlah replikasi untuk tiap perlakuan minimal 8 kali.

E. Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Skala
Kadar Hb	Kadar Hb diukur dengan nilai normal pada pria dewasa yaitu 14-18 g/dL dan wanita dewasa 12-16 g/dL	Rasio
Segera diperiksa	Darah vena dari proses <i>phlebotomy</i> dimasukkan ke dalam tabung <i>vacutainer</i> bertutup ungu (EDTA), dihomogenkan dan segera diperiksa kadar Hb dengan alat Hb Sahli	Rasio
Ditunda 30 menit	Darah vena dari proses <i>phlebotomy</i> dimasukkan ke dalam tabung <i>vacutainer</i> bertutup ungu (EDTA), dihomogenkan dan disimpan pada suhu ruangan selama 30 menit. Setelah 30 menit disimpan, darah EDTA diperiksa dengan alat Hb Sahli	Rasio
Ditunda 60 menit	Darah vena dari proses <i>phlebotomy</i> dimasukkan ke dalam tabung <i>vacutainer</i> bertutup ungu (EDTA), dihomogenkan dan disimpan pada suhu ruangan selama 60 menit. Setelah 60 menit disimpan, darah EDTA diperiksa dengan alat Hb Sahli	Rasio
Ditunda 90 menit	Darah vena dari proses <i>phlebotomy</i> dimasukkan ke dalam tabung <i>vacutainer</i> bertutup ungu (EDTA), dihomogenkan dan disimpan pada suhu ruangan selama 90 menit. Setelah 90 menit disimpan, darah EDTA diperiksa dengan alat Hb Sahli	Rasio

F. Prosedur Penelitian

1. Pengambilan sampel darah vena

a. Alat

Tourniquet, holder, dan spidol.

b. Bahan

Jarum *multisample needle*, swab alkohol 70%, tabung *vacutainer* dengan K₃EDTA, kapas kering, dan plester.

c. Langkah Kerja

1. Alat dan bahan disiapkan, kemudian minta pasien duduk dengan posisi lengan lurus dan tanyakan pada pasien bagian lengan yang banyak melakukan aktifitas.
2. Pasang *tourniquet* ± 10 cm diatas lipatan siku dan pasien diminta untuk mengepalkan tangan sehingga mempermudah ditemukannya vena yang tepat (*mediana cubiti*) dan *tourniquet* dilonggarkan kembali.
3. Bersihkan bagian kulit dengan *swab* alkohol 70% dan dibiarkan hingga mengering. Saat menunggu waktu mengering, jarum *multisample needle* dipasangkan pada holder (pastikan terpasang erat).
4. *Tourniquet* dikencangkan kembali dan tusuk bagian vena dengan posisi lubang jarum menghadap ke atas (saat akan memasukkan jarum minta pasien untuk menarik nafas).
5. Tabung vakum EDTA dimasukkan dan didorong sehingga jarum bagian posterior tertancap pada tabung, maka darah akan mengalir masuk ke dalam tabung.
6. Pasien diminta membuka kepalan tangannya (tunggu sampai darah berhenti mengalir) dan lepaskan *tourniquet*.
7. Letakkan *swab* alkohol di tempat suntikan kemudian jarum ditarik dan *swab* alkohol ditekan beberapa saat dan diberi plester di tempat suntikan tadi.

8. Diberi kode pada tabung *vacutainer* dengan spidol.

2. Cara penyimpanan darah EDTA 30 menit, 60 menit dan 90 menit

a. Alat

Rak tabung, *stopwatch*, kertas label dan spidol.

b. Langkah Kerja

1. Darah vena yang telah diambil dari proses *phlebotomy* sebanyak 3 mL dimasukkan ke dalam tabung *vacutainer* bertutup ungu (EDTA) langsung dihomogenkan dan ditulis lamanya waktu inkubasi (30 menit, 60 menit dan 90 menit) setiap replikasi.
2. Simpan pada rak tabung dan dijalankan *stopwatch* selama selama 30 menit, 60 menit dan 90 menit. Setelah 30 menit, 60 menit dan 90 menit maka diperiksa kadar Hb dari sampel tersebut.

3. Pemeriksaan Hb yang segera diperiksa

a. Alat

Hemometer (tabung Sahli, pipet Sahli, batang pengaduk, pembanding warna/standar Hb, sikat, pipet tetes, aspirator dan botol berisi HCl 0,1 N), dan rak tabung.

b. Bahan

Darah vena EDTA, HCl 0,1 N, aquades dan tisu.

c. Langkah Kerja

1. Larutan HCl 0,1 N dimasukkan ke dalam tabung Sahli sampai tanda batas 2.

2. Hisap darah EDTA menggunakan pipet Sahli hingga tanda batas 20 μL dan bersihkan sisa darah yang melekat pada bagian luar pipet dengan tisu.
3. Masukkan darah EDTA dari pipet ke dalam dasar tabung Sahli yang telah terisi HCl 0,1 N dan homogenkan larutan dengan cara hisap dan lepaskan larutan HCl menggunakan pipet Sahli 2-3 kali untuk membilas sisa darah dalam pipet.
4. Inkubasi selama 3-5 menit dan tambahkan aquades tetes demi tetes lalu homogenkan dengan batang pengaduk (perhatikan jangan sampai ada gelembung udara).
5. Bandingkan warna yang terbentuk dengan warna pada standar. Jika warna masih pekat (lebih gelap dari standar), tambahkan lagi aquades dan homogenkan kembali sampai warna sama dengan warna standar. Setelah itu, baca skala tabung Sahli pada miniskus bawah larutan, catat hasil kadar hemoglobin dalam satuan g/dL.

4. Pemeriksaan Hb ditunda 30 menit, 60 menit dan 90 menit pada suhu ruangan.

a. Alat

Hemometer (tabung Sahli, pipet Sahli, batang pengaduk, pembandingan warna/standar Hb, sikat, pipet tetes, aspirator dan botol berisi HCl 0,1 N), dan rak tabung.

b. Bahan

Darah vena EDTA, HCl 0,1 N, aquades dan tisu.

c. Langkah Kerja

1. Larutan HCl 0,1 N dimasukkan ke dalam tabung Sahli sampai tanda batas 2 dan hisap darah EDTA (yang telah disimpan pada suhu ruangan selama 30 menit, 60 menit dan 90 menit) menggunakan pipet Sahli hingga tanda batas 20 μ L (hapus darah yang melekat pada bagian luar pipet dengan tisu).
2. Masukkan darah EDTA dari pipet ke dalam dasar tabung Sahli yang telah terisi HCl 0,1 N.
3. Hisap dan lepaskan larutan HCl menggunakan pipet Sahli 2-3 kali untuk membilas sisa darah dalam pipet dan inkubasi selama 3-5 menit.
4. Tambahkan aquades tetes demi tetes dan homogenkan dengan batang pengaduk, perhatikan jangan sampai ada gelembung udara.
5. Bandingkan warna yang terbentuk dengan warna pada standar. Jika warna masih pekat (lebih gelap dari standar), tambahkan lagi aquades dan homogenkan kembali sampai warna sama dengan warna standar.
6. Baca skala tabung Sahli pada miniskus bawah larutan, catat hasil kadar hemoglobin dalam satuan g/dL.

G. Analisis Hasil

Analisis hasil dilakukan dengan uji statistik parametrik *One-Way ANOVA* jika distribusi normal. Untuk menentukan waktu penundaan pemeriksaan mana yang memiliki kebermaknaan maka dilakukan analisis *Post Hoc* menggunakan Tukey HSD.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Penelitian untuk mengetahui kadar Hb dengan metode sahli dengan waktu pemeriksaan segera ditunda 30 menit, 60 menit dan 90 menit pada suhu ruangan telah dilakukan dengan tujuan mengetahui perbedaan hasil pemeriksaan kadar Hb metode Sahli. Penelitian ini menggunakan metode eksperimen dengan variasi perlakuan 30 menit, 60 menit dan 90 menit yang direplikasi sebanyak 8 kali.

Penelitian yang dilakukan untuk pemeriksaan segera, dikerjakan dengan cara sampel darah vena dimasukkan ke dalam tabung *vacutainer* bertutup ungu (EDTA), dihomogenkan dan segera diperiksa kadar Hb dengan alat Hb Sahli. Sampel yang diberi perlakuan 30 menit, 60 menit dan 90 menit waktu dihitung setelah sampel dimasukkan ke dalam tabung. Hasil penelitian dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Hasil Penelitian Pemeriksaan Kadar Hb

No Replikasi	Kadar Hb (g/dL)			
	Segera	Di tunda pada suhu ruangan		
		30 menit	60 menit	90 menit
1	13.2	11.6	10.4	8.8
2	12.0	10.4	9.2	8.4
3	12.2	11.0	9.4	8.0
4	13.0	11.2	10.0	8.8
5	13.4	12.0	10.4	9.0
6	12.0	10.8	9.2	8.4
7	12.4	11.0	9.6	8.6
8	12.2	10.8	9.6	8.6

Data pada Tabel 4.1 diuji normalitasnya dengan uji Saphiro Wilk diperoleh hasil data berdistribusi normal dan homogen sebagai syarat uji ANOVA.

Hasil uji One Way ANOVA menunjukkan nilai signifikan 0,000 yang menandakan adanya perbedaan, oleh karena itu dilanjutkan analisa Post Hoc

menggunakan uji Tukey HSD. Hasil uji Tukey HSD menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antara pemeriksaan segera dengan ditunda 30 menit, 60 menit dan 90 menit yang ditunjukkan dengan nilai $p < 0,05$.

Hasil uji ini menunjukkan bahwa dalam pemeriksaan kadar Hb metode Sahli harus segera dilakukan. Pemeriksaan yang menggunakan darah EDTA, sebaiknya harus dilakukan dengan segera, bila terpaksa ditunda sebaiknya harus diperhatikan batas waktu penyimpanannya (Gandasoebrata, 2010). Darah EDTA yang ditunda 1 jam atau lebih pada suhu kamar akan menyebabkan eritrosit membengkak sehingga nilai hematokrit, hemoglobin, KHER menurun dan VER meningkat. Hal ini disebabkan karena kelainan morfologi eritrosit yang terjadi adalah bentuk krenasi/*echinocyte*. Krenasi adalah bentuk eritrosit yang mengerut dan timbul tonjolan-tonjolan pada permukaannya. Krenasi biasanya terbentuk pada darah yang dibiarkan pada suhu kamar dalam waktu yang lama, yang berarti juga semakin lama terpapar dengan EDTA. Perubahan bentuk eritrosit ini dapat disebabkan oleh pengaruh faktor intrinsik seperti berkurangnya adenosine triphosphat (ATP) atau karena faktor ekstrinsik seperti peningkatan pH antikoagulan. Selain itu, EDTA akan menyebabkan penurunan tegangan permukaan membran eritrosit sehingga membran eritrosit menjadi lemah dan tidak stabil, eritrosit akan membengkak dan terbentuk tonjolan-tonjolan di permukaannya sehingga menyebabkan perubahan bentuk dari diskoid menjadi ekinosit (Wirawan, 2010).

Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Hilmi (2009) yang menunjukkan bahwa kadar Hb yang diperiksa 0 jam dan ditunda

setelah 6 jam, 12 jam, 24 jam mengalami perubahan sebesar 84%. Hasil yang ditemukan ini, dapat disimpulkan bahwa darah yang disimpan terlalu lama pada suhu kamar dapat berpengaruh terhadap kadar hemoglobin. Adapun penelitian yang dilakukan oleh Parwati (2018), yang menyatakan bahwa kadar Hb yang diperiksa segera dan ditunda 4 jam pada suhu ruangan memiliki hasil yang berbeda. Pemeriksaan darah segera memiliki rata-rata kadar Hb 14,57 g/dL sedangkan pemeriksaan darah yang ditunda memiliki rata-rata kadar Hb 12,805 g/dL. Penundaan tersebut mengakibatkan terjadinya selisih sebesar 1,765 g/dL. Jadi berdasarkan kedua penelitian tersebut dapat ditarik kesimpulan bahwa semakin lama penundaan pemeriksaan mengakibatkan penurunan kadar Hb.

Menurut Nugraha (2017) pemeriksaan Hb metode Sahli dapat terjadi kesalahan atau penyimpangan hasil yang disebabkan oleh beberapa faktor yakni kesalahan yang terjadi pada metode. Kesalahan atau penyimpangan hasil yang terjadi karena tidak semua hemoglobin diubah menjadi asam hematin seperti methemoglobin, sulfhemoglobin dan karboksihemoglobin. Alat yang digunakan juga dapat menjadi faktor kesalahan, warna standar yang sudah lama dan tidak dikalibrasi, kotor atau dibuat oleh banyak pabrik sehingga intensitas warna standar berbeda. Faktor kesalahan juga dapat terjadi ketika pemeriksaan, misalnya waktu inkubasi, pemipetan darah yang kurang tepat, adanya gelembung udara, pemakaian batang pengaduk yang terlalu sering digunakan untuk menghomogenkan pengenceran, sumber cahaya, kemampuan untuk membedakan warna serta kelelahan mata.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Terdapat perbedaan bermakna antara pemeriksaan segera dengan waktu pemeriksaan yang ditunda 30 menit, 60 menit dan 90 menit dengan darah EDTA terhadap kadar hemoglobin Metode Sahli.

B. Saran

1. Sampel yang diterima untuk melakukan pemeriksaan Hb sebaiknya langsung dikerjakan tanpa ditunda pemeriksaannya.
2. Pemeriksaan kadar Hb metode Sahli sebaiknya memperhatikan cara menghomogenkan darah dalam tabung EDTA, waktu inkubasi, pemipetan darah, dan dilihat ada tidaknya gelembung udara.
3. Bagi peneliti selanjutnya, sebaiknya melakukan pemeriksaan kadar Hb dengan metode otomatis yang sesuai gold standar (cyanmethemoglobin).

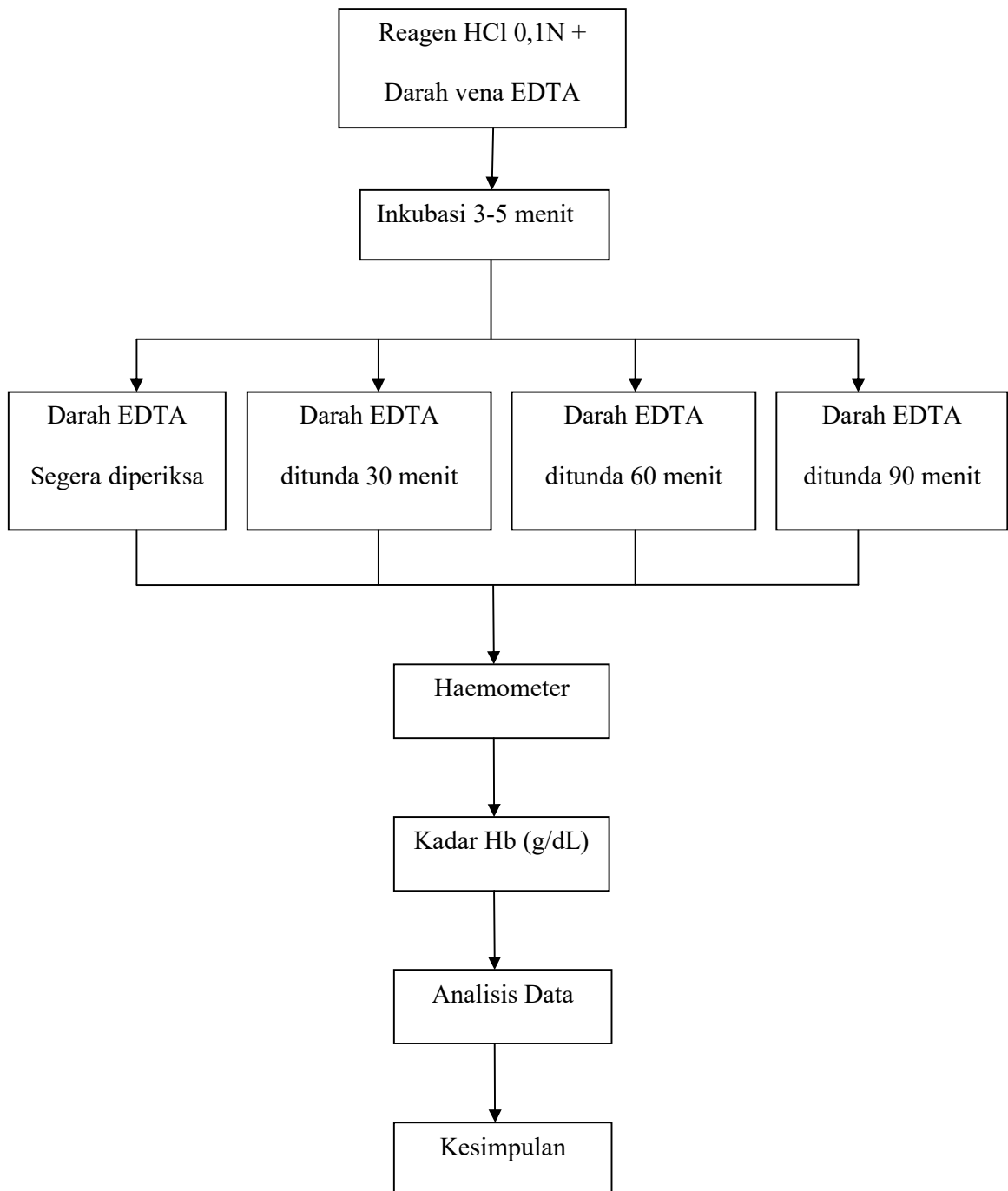
DAFTAR PUSTAKA

- Anderson, P.D., 2010, *Anatomi Fisiologi Tubuh Manusia*, Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Arianda, D., 2015, *Buku Saku Analis Kesehatan*, Analis Muslim Publishing, Bekasi.
- Bloom, W., dan Fawcett, D.W., 1994. *Buku ajar Histologi*. 12 th Ed. Penerjemah : Jan Tambayong. EGC. Jakarta.
- Calle, M., Usandizaga R., Sancha, M., Magdaleno, F., Herranz, A., Cabrillo, E., 2003, *Homocysteine, folic acid and B-group vitamins in obstetrics and gynaecology*, 107 (2) : 34-125.
- Gandasoebrata, R., 2010, *Penuntun Laboratorium Klinik*, Cetakan ke-16, Dian Rakyat, Jakarta.
- Ganong, W. F., 2004, *Buku Ajar fisiologi kedokteran*, Edisi 20, EGC, Jakarta.
- Guyton, A.C., dan Hall, J.E., 2007, *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*, Edisi 11, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Hilmi, S., 2009, *Pengaruh waktu penyimpanan darah EDTA pada suhu kamar terhadap kadar Hemoglobin*, 4 (2) : 392-396.
- Hoffbrand A.V., Petit J.E., 2005, Moss P.A.H., *Kapita Selekta Hematologi*, Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Ismoyowati, T. Y., Sidadolog, J.H.P., dan Keman, S., 2006. Performans Reproduksi Itik Tegal Berdasarkan Status Hematologis. *Animal Production*. Vol. 8, No. 2: 88-93.
- Lewis, S.M., Bain, B.J., Bates I., 2010, *Dacie and Lewis Practical Hematology*, 9th ed. Churchill Livingstone, New York.
- Nugraha, G., 2017, *Panduan Pemeriksaan Laboratorium Hematologi Dasar*, Edisi 2, Trans Info Media, Jakarta.
- Pagana, K.D., 2008, *Mosby's Diagnostic and Laboratory Test Preference*, 8th ed, Mosby Elsevier, London
- Parwati, E.P., 2018, Gambaran Pemeriksaan Kadar Hemoglobin (Hb) Metode Cyanmethemoglobin yang di Periksa Segera dan di Tunda 4 Jam, *Karya Tulis Ilmiah*, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Insan Cendekia Medika, Jombang.
- Pearce, E.C., 2006, *Anatomi dan Fisiologis Untuk Para Medis*, Cetakan ke-29, PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Sacher, A.R., Richard, A., Pherson, M.C., 2012, *Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium*, EGC, Jakarta.
- Sodikin, 2009, *Buku Saku Perawatan Tali Pusat*, EGC, Jakarta.
- Wintrobe, M.M., dan Greer, J.P., 2009, *Wintrobe's Clinical Hematology*, Lippincott Williams dan Wilkins, Philadelphia.



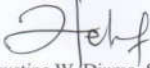
Wirawan, R., 2010. *Pemeriksaan Laboratorium Sederhana*. Edisi 6. FKUI. Jakarta

....., 2012, *Pemantapan Kualitas Uji Hematologik*, FKUI, Jakarta

Lampiran 1. Alur Penelitian



Lampiran 2. Surat Ijin Penelitian

	<p>KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA BADAN PENGEMBANGAN DAN PEMBERDAYAAN SUMBER DAYA MANUSIA KESEHATAN POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES KUPANG Direktorat : Jln. Piet A. Tallo Liliba – Kupang, Telp : (0380) 8800256 Fax (0380) 8800256; Email: poltekkeskupang@yahoo.com</p>									
<hr/> <p><u>SURAT KETERANGAN MELAKUKAN PENELITIAN</u> NOMOR : UM. 01.05/12/113/2019</p>										
<p>Yang bertandatangan di bawah ini :</p> <table border="0" style="width: 100%;"><tr><td style="width: 30%;">Nama</td><td>: Agustina W. Djuma, S.Pd., M.Sc</td></tr><tr><td>NIP</td><td>: NIP. 197308011993032001</td></tr><tr><td>Pangkat/ Gol</td><td>: Penata Tk. 1/III d</td></tr><tr><td>Jabatan</td><td>: Ketua Program Studi Analis Kesehatan</td></tr></table>			Nama	: Agustina W. Djuma, S.Pd., M.Sc	NIP	: NIP. 197308011993032001	Pangkat/ Gol	: Penata Tk. 1/III d	Jabatan	: Ketua Program Studi Analis Kesehatan
Nama	: Agustina W. Djuma, S.Pd., M.Sc									
NIP	: NIP. 197308011993032001									
Pangkat/ Gol	: Penata Tk. 1/III d									
Jabatan	: Ketua Program Studi Analis Kesehatan									
<p>Dengan ini menyatakan bahwa :</p> <table border="0" style="width: 100%;"><tr><td style="width: 30%;">Nama</td><td>: Irene Dian Seran</td></tr><tr><td>NIM</td><td>: PO. 530333316070</td></tr><tr><td>Judul Penelitian</td><td>: Perbedaan hasil pemeriksaan kadar Hb metode Sahli dengan darah vena yang segera diperiksa dan ditunda 30 menit, 60 menit dan 90 menit pada suhu ruangan.</td></tr></table>			Nama	: Irene Dian Seran	NIM	: PO. 530333316070	Judul Penelitian	: Perbedaan hasil pemeriksaan kadar Hb metode Sahli dengan darah vena yang segera diperiksa dan ditunda 30 menit, 60 menit dan 90 menit pada suhu ruangan.		
Nama	: Irene Dian Seran									
NIM	: PO. 530333316070									
Judul Penelitian	: Perbedaan hasil pemeriksaan kadar Hb metode Sahli dengan darah vena yang segera diperiksa dan ditunda 30 menit, 60 menit dan 90 menit pada suhu ruangan.									
<p>Akan melakukan penelitian (Pemeriksaan sampel) di Laboratorium Hematologi Program Studi Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Kupang.</p> <p>Demikian Surat keterangan ini kami buat, untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.</p>										
<p>Kupang, 14 April 2019 Ketua Prodi Analis Kesehatan  Agustina W. Djuma, S.Pd., M.Sc NIP. 197308011993032001</p>										

Lampiran 3. Pembuatan Reagen HCl 0,1 N

1. Perhitungan HCl 0,1N dalam 100 mL

Diketahui nilai : N HCl pekat = 12,06 $V_2 = 100 \text{ mL}$

$$N_2 = 1$$

Ditanya : $V_2 = \dots?$

Jawab : $N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$

$$12,06 \text{ N} \times V_1 = 1 \text{ N} \times 100 \text{ mL}$$

$$V_1 = 100/12,06$$

$$V_1 = 8,29$$

$$V_1 = 8,3 \text{ mL}$$

Jadi, banyaknya HCl pekat yang perlu dipipet adalah 8,3 mL.

2. Alat dan bahan

- | | |
|--------------------------|----------------------|
| a. Pipet ukur 1 mL, 5 mL | e. Gelas ukur 100 mL |
| b. Bola hisap | f. Aquades |
| c. Labu ukur 100 mL | g. HCl pekat 8,3 mL |
| d. Botol coklat | h. Kertas label |

3. Prosedur Kerja

- Alat dan bahan disiapkan
- Larutan HCl pekat di hisap sebanyak 8,3 mL dengan pipet ukur dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL yang telah disiapkan.
- Aquades dimasukkan ke dalam labu ukur sampai tanda batas lalu dihomogenkan.
- Masukkan larutan tersebut ke dalam botol coklat dan diberi label.

Lampiran 4. Surat Persetujuan Subyek Penelitian

SURAT PERNYATAAN KESANGGUPAN MENJADI SUBYEK PENELITIAN

Setelah saya mendapat penjelasan dan memahaminya dengan baik tentang penelitian yang berjudul:

PERBEDAAN HASIL PEMERIKSAAN KADAR HB METODE SAHLI DENGAN DARAH VENA YANG SEGERA DIPERIKSA DAN DITUNDA 30 MENIT, 60 MENIT DAN 90 MENIT PADA SUHU RUANGAN

Maka saya yang bertanda tangan dibawah ini,

Nama :

Umur :

Jenis kelamin :

Alamat :

No.Tlp/HP :

Bersedia ikut serta dalam penelitian dan saya bersedia untuk :

1. Diambil darah vena untuk dilakukan pemeriksaan kadar hemoglobin.
 2. Mengisi kuesioner tentang beberapa data yang diperlukan dalam penelitian ini.
- Keikutsertaan saya dalam penelitian ini dilakukan tanpa ada paksaan dari pihak manapun.

Kupang, April 2019

Peneliti

Subjek Penelitian

Irene Dian Seran
NIM: PO 530333316070

(.....)

Lampiran 5. Kuisioner Penelitian

KUISIONER PENELITIAN

Dalam rangka menyelesaikan studi (Diploma III) di Prodi Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Kupang, saya akan melakukan penelitian tentang “PERBEDAAN HASIL PEMERIKSAAN KADAR HB METODE SAHLI DENGAN DARAH VENA YANG SEGERA DIPERIKSA DAN DITUNDA 30 MENIT, 60 MENIT DAN 90 MENIT PADA SUHU RUANGAN” dengan alat bantu yang digunakan adalah kuisioner.

Data kuisioner ini digunakan semata-mata untuk penyusunan Karya Tulis Ilmiah, mohon diisi sesuai dengan keadaan sebenarnya dengan memberi tanda centang (✓) bagi obsen yang dianggap benar. Terima kasih untuk kerjasama dan bantuannya.

Nomor subjek penelitian :

Tanggal pengisian :

1. Identitas Responden :

a. Nama :

b. Umur :

c. Jenis Kelamin :

2. Faktor yang mempengaruhi :

No	Pernyataan	Ya	Tidak
1.	Apakah anda sedang mengkonsumsi obat tambah darah ?		
2.	Apakah anda sedang dalam masa menstruasi?		
3.	Apakah anda pernah memiliki riwayat anemia?		
4.	Apakah anda kesulitan dalam tidur akhir-akhir ini?		

Lampiran 6. Gambar dan Hasil Penelitian

1. Instrumen yang digunakan untuk Pemeriksaan Kadar Hb Metode Sahli Dengan Darah Vena yang segera diperiksa dan ditunda 30 menit, 60 menit dan 90 menit pada suhu ruangan.



Reagen HCl 0,1 N



Alat Haemometer



Alat *Phlebotomy*



Tissue

2. Melakukan *phlebotomy*



3. Pemipetan reagen dengan pipet tetes



4. Pemipetan sampel darah dengan pipet sahli



5. Hasil pemeriksaan kadar Hb



6. Hasil Pemeriksaan kadar Hb metode sahli

No Replikasi	Kadar Hb (g/dL)			
	Segera	Di tunda pada suhu ruangan		
		30 menit	60 menit	90 menit
1	13.2	11.6	10.4	8.8
2	12.0	10.4	9.2	8.4
3	12.2	11.0	9.4	8.0
4	13.0	11.2	10.0	8.8
5	13.4	12.0	10.4	9.0
6	12.0	10.8	9.2	8.4
7	12.4	11.0	9.6	8.6
8	12.2	10.8	9.6	8.6

Lampiran 7. Hasil Uji Statistik

1. Tests of Normality

	Waktu Pemeriksaan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kadar Hemoglobin	Seegera Diperiksa	.233	8	.200 [*]	.855	8	.108
	DiTunda Pada Suhu Ruangan Selama 30 Menit	.204	8	.200 [*]	.947	8	.683
	DiTunda Pada Suhu Ruangan Selama 60 Menit	.226	8	.200 [*]	.875	8	.169
	DiTunda Pada Suhu Ruangan Selama 90 Menit	.162	8	.200 [*]	.952	8	.731

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

2. Test of Homogeneity of Variances

Kadar Hemoglobin

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.646	3	28	.201

3. Tabel Descriptives

Kadar Hemoglobin

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Segera Diperiksa	8	12.550	.5632	.1991	12.079	13.021	12.0	13.4
DiTunda Pada Suhu Ruangan Selama 30 Menit	8	11.100	.5014	.1773	10.681	11.519	10.4	12.0
DiTunda Pada Suhu Ruangan Selama 60 Menit	8	9.725	.4892	.1729	9.316	10.134	9.2	10.4
DiTunda Pada Suhu Ruangan Selama 90 Menit	8	8.575	.3105	.1098	8.315	8.835	8.0	9.0
Total	32	10.487	1.5788	.2791	9.918	11.057	8.0	13.4

4. ANOVA



Kadar Hemoglobin

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	70.945	3	23.648	104.606	.000
Within Groups	6.330	28	.226		
Total	77.275	31			

5. Uji Pos Hoc dengan Turkey HSD

(I) Waktu Pemeriksaan	(J) Waktu Pemeriksaan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Segera Diperiksa	DiTunda Pada Suhu Ruangan Selama 30 Menit	1.4500 *	.2377	.000	.801	2.099
	DiTunda Pada Suhu Ruangan Selama 60 Menit	2.8250 *	.2377	.000	2.176	3.474
	DiTunda Pada Suhu Ruangan Selama 90 Menit	3.9750 *	.2377	.000	3.326	4.624
DiTunda Pada Suhu Ruangan Selama 30 Menit	Segera Diperiksa	-1.4500 *	.2377	.000	-2.099	-.801
	DiTunda Pada Suhu Ruangan Selama 60 Menit	1.3750 *	.2377	.000	.726	2.024
	DiTunda Pada Suhu Ruangan Selama 90 Menit	2.5250 *	.2377	.000	1.876	3.174
DiTunda Pada Suhu Ruangan Selama 60 Menit	Segera Diperiksa	-2.8250 *	.2377	.000	-3.474	-2.176
	DiTunda Pada Suhu Ruangan Selama 30 Menit	-1.3750 *	.2377	.000	-2.024	-.726
	DiTunda Pada Suhu Ruangan Selama 90 Menit	1.1500 *	.2377	.000	.501	1.799
DiTunda Pada Suhu Ruangan Selama 90 Menit	Segera Diperiksa	-3.9750 *	.2377	.000	-4.624	-3.326
	DiTunda Pada Suhu Ruangan Selama 30 Menit	-2.5250 *	.2377	.000	-3.174	-1.876
	DiTunda Pada Suhu Ruangan Selama 60 Menit	-1.1500 *	.2377	.000	-1.799	-.501

Lampiran 8. Surat Selesai Penelitian

	<p>KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA BADAN PENGEMBANGAN DAN PEMBERDAYAAN SUMBER DAYA MANUSIA KESEHATAN POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES KUPANG Direktorat : Jln. Piet A. Tallo Liliba – Kupang, Telp : (0380) 8800 Fax (0380) 8800256; Email: poltekkeskupang@yahoo.com</p>	
---	--	---

SURAT KETERANGAN
NOMOR : MM. 01.05/12/113/2019

Yang bertandatangan di bawah ini :

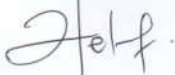

Nama : Kuntum Ekawati Nurdin, S.ST
NIP : NIP. 198609102014022002
Pangkat/ Gol : Penata Muda Tk. 1/IIIB
Jabatan : Penanggung Jawab Laboratorium Prodi Analis Kesehatan

Menyatakan bahwa :

Nama : Irene Dian Seran
NIM : PO. 530333316070
Judul Penelitian : Perbedaan hasil pemeriksaan kadar Hb metode Sahli dengan darah vena yang segera diperiksa dan ditunda 30 menit, 60 menit dan 90 menit pada suhu ruangan.

Telah melaksanakan pemeriksaan sampel penelitian sebanyak 1 dan diperoleh hasil pemeriksaan yang terlampir dalam surat ini.
Demikian surat ini dibuat untuk dapat digunakan sebagai mana mestinya.

Kupang, 20 April 2019

Mengetahui, Ketua Prodi Analis Kesehatan  Agustina W. Djuma, S.Pd., M.Sc NIP. 197308011993032001	Penanggung Jawab Laboratorium  Kuntum Ekawati Nurdin, SST NIP. 198609102014022002
---	--